

PENGARUH PEMBERIAN SUSU KAMBING TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS PARU DAN KADAR HEMOGLOBIN (Hb) TIKUS WISTAR YANG TERPAPAR ASAP KENDARAAN BERMOTOR

Ageng Indah Afiahma¹, R.B. Bambang Witjahyo²

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Paru merupakan organ respiratorik yang dapat mengalami inflamasi akibat paparan asap kendaraan bermotor. Asap kendaraan bermotor juga dapat menyebabkan anemia karena meningkatkan laju hemolisis dan menghambat sintesis Hb. Susu kambing mengandung antioksidan yang dapat mencegah inflamasi paru dan anemia akibat asap kendaraan bermotor.

Tujuan: Membuktikan pengaruh pemberian susu kambing terhadap perbedaan gambaran mikroskopis paru dan kadar hemoglobin tikus wistar yang terpapar asap kendaraan bermotor.

Metode: Penelitian ini berjenis true experimental dengan rancangan post test only controlled group design. Sampel sebanyak 15 ekor tikus wistar usia 2-3 bulan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) yang hanya diberi makanan dan minuman standar, kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi paparan asap kendaraan bermotor selama 8 jam/hari selama 30 hari dan kelompok perlakuan 2 (P2) diberi susu kambing dengan dosis 473,2 mg/KgBB kemudian diberi paparan asap kendaraan bermotor selama 8 jam/hari selama 30 hari. Pada hari ke-31, darah tikus diambil melalui retroorbita kemudian diterminasi untuk diamati perubahan mikroskopis parunya.

Hasil: Gambaran mikroskopis paru pada uji Mann Whitney didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) kelompok K-P1, P1-P2 ($p = 0,004$, $p = 0,004$) sedangkan K-P2 tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p = 0,072$). Rerata kadar hemoglobin P1 ($13,1 \pm 0,233$) lebih tinggi jika dibandingkan dengan K ($12,9 \pm 0,949$) dengan ($p > 0,05$) dan P2 ($14,6 \pm 0,464$) lebih tinggi dibandingkan dengan P1 dan K ($p < 0,05$).

Simpulan: Pemberian susu kambing menghambat kerusakan mikroskopis paru berupa oedema alveolus, destruksi septum interalveolaris, dan infiltrasi sel radang. Kadar Hb lebih tinggi pada kelompok tikus wistar yang diberi susu kambing.

Kata kunci: Susu kambing, mikroskopis, paru, asap kendaraan bermotor

ABSTRACT

THE EFFECT OF GOAT'S MILK ON THE DIFFERENCE OF MICROSCOPIC APPEARANCE OF LUNG AND HEMOGLOBIN LEVEL OF WISTAR RATS EXPOSED TO SMOKE FROM MOTOR VEHICLES

Background Lung is an organ respiratory and may occur abnormalities associated with inflammatory caused by an exposure to smoke from motor vehicles. Smoke from motor vehicles can also cause anemia because it increases rate of hemolysis and inhibits synthesis of hemoglobin. Goat's milk is rich of functional components with antioxidant properties that can prevent lung inflammation and anemia because of smoke from motor vehicles.

Aim To prove the effect of goat's milk on the difference of microscopic appearance of lung and hemoglobin level of Wistar rats exposed to smoke from motor vehicles.

Methods This study was a true experimental study with post-test only controlled group design. Samples were 15 Wistar rats, aged 2-3 months, divided into 3 groups: control group (K), was only given standard food and drink; treatment group 1 (P1), was exposed to smoke from motor vehicles for 8 hours per day for 30 days long; and treatment group 2 (P2), was given goat's milk with 473.2 mg / KgBW dose and exposed to smoke from motor vehicles for 8 hours per day for 30 days afterwards. On day 31st, the mice blood drawn through retroorbita then terminated for change in microscopic appearance of lung observed.

Results There was significant difference of microscopic appearance of lung from Mann Whitney test ($p < 0.05$), groups of K-P1, P1-P2 ($p = 0.004$, $p = 0.004$) whereas K-P2 was found insignificant ($p = 0.072$). Besides, the mean hemoglobin level P1 ($13,1 \pm 0,233$) was higher than K ($12,9 \pm 0,949$) with ($p > 0.05$) and P2 ($14,6 \pm 0,464$) was higher than P1 and K ($p < 0.05$).

Conclusion Goat's milk inhibits lung microscopic damage include alveolar edema, destruction interalveolaris septum, and infiltration of inflammatory cell Wistar rats exposed to smoke from motor vehicles. Hemoglobin levels were higher in group Wistar rats were fed goat's milk.

Key words: Goat's milk, microscopic, lung, smoke from motor vehicles

PENDAHULUAN

Paru merupakan suatu organ respiratorik yang memiliki area permukaan alveolus seluas 40 m^2 untuk pertukaran udara antara O_2 dengan CO_2 .¹ Kelainan yang terjadi pada paru dapat disebabkan oleh iritan, inhalasi alergen dan toksik obat-obatan yang menyebabkan perubahan struktur mikroskopis sehingga terjadi penurunan fungsi paru dan penurunan kualitas hidup manusia.² Paparan polusi udara secara terus menerus menimbulkan reaksi inflamasi pada saluran napas diantaranya bronkitis kronis dan emfisema.³

Anemia merupakan kondisi berkurangnya hingga dibawah nilai normal jumlah sel darah merah, kuantitas hemoglobin dan volume *packed red cell* (hematokrit) per 100 ml. Kuantitas hemoglobin dapat berkurang sebagai akibat dari paparan polutan asap kendaraan bermotor terutama nitrogen oksida dan timbal.⁴

Polutan yang disebabkan oleh asap kendaraan bermotor dapat menimbulkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) melalui mekanisme pengrusakan makromolekul seperti protein, asam nukleat, dan lipid.⁵ Keracunan timbal akan menyebabkan penurunan antioksidan alami dalam tubuh, meningkatkan *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan dapat menghambat enzim

yang berperan penting dalam sintesis hemoglobin sehingga menurunkan kadar hemoglobin dan menyebabkan anemia.^{6,7}

Susu kambing mudah diperoleh karena peternakan kambing tersebar di sebagian besar wilayah Indonesia.⁸ Protein pada susu kambing merupakan sumber utama biopeptida aktif yang dapat berperan sebagai antioksidan.^{9,10} Susu kambing mengandung mikronutrien vitamin C, vitamin B₆ dan vitamin E yang bermanfaat sebagai antioksidan dan antiinflamasi, bahan pembentuk oksidan alami seperti sistein, seng (Zn) dan besi (Fe) yang mampu sebagai kompetitif inhibitor pengikatan timbal di traktus gastrointestinal dan meningkatkan kadar SOD dan mengaktivasi enzim ALAD sehingga sintesa hemoglobin dapat terjadi dan vitamin C yang juga dapat berperan dalam mengikat Pb dan meningkatkan ekskresinya.¹¹ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Javier Diaz-Castro pada tahun 2012, pemberian susu kambing bubuk dengan dosis 473,2 mg/KgBB pada tikus memiliki manfaat sebagai antioksidan pada kelebihan asupan Fe (Zat besi) yang kronik.¹²

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian susu kambing terhadap perbedaan gambaran mikroskopis paru dan kadar hemoglobin tikus wistar yang terpapar asap kendaraan bermotor.

METODE

Penelitian ini berjenis *true experimental* dengan rancangan *post test only controlled group design* dengan menggunakan sampel sebanyak 15 ekor tikus wistar usia 2 - 3 bulan dengan berat badan 100 - 200 gram yang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol, dan 2 kelompok perlakuan dengan jumlah sampel tiap kelompok adalah 5 ekor yang dikelompokkan secara acak (*simple random sampling*). Tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari. Kelompok kontrol dipelihara di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang dengan diberi minum dan makan standar selama 30 hari. Kelompok perlakuan 1 diberi paparan asap kendaraan bermotor dan kelompok perlakuan 2 diberi susu kambing dengan dosis 473,2 mg/KgBB kemudian diberi paparan asap kendaraan bermotor. Pemaparan asap kendaraan bermotor dilakukan di di SPBU Tugu Suharto Sampangan Semarang selama 8 jam/hari selama 30 hari. Pemberian susu kambing pada tikus wistar dengan menggunakan sonde.

Pada hari ke-31, semua tikus wistar diambil darahnya melalui retroorbita untuk diukur kadar hemoglobinnya, setelah itu tikus wistar diterminasi dengan cara dekapitasi dan organ paru tiap sampel diambil untuk membuat preparat jaringan paru melalui proses metode baku pemeriksaan jaringan dengan menggunakan pengecatan Hematoxyllin Eosin (HE). Pada penelitian ini tidak didapatkan sampel yang mati, sehingga sampai akhir penelitian jumlah sampel masih memenuhi ketentuan WHO, yaitu dengan jumlah sampel minimal tiap kelompok adalah 5 ekor.

Pengukuran kadar hemoglobin menggunakan metode spektrofotometri. Pengamatan gambaran mikroskopis pada paru dilakukan dengan menilai derajat kerusakan alveolus menggunakan kriteria Hansel dan Barnes dengan mengamati oedema alveolus, destruksi septum interalveolar, dan serbukan sel radang. Pengamatan dari masing-masing preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dalam 5 lapangan pandang yang dilihat pada keempat bagian sudut dan bagian tengah preparat pada perbesaran 400x.

Tabel 1. Kriteria Penilaian Derajat Kerusakan Alveolus Paru menurut Hansel dan Barnes.¹³

Kriteria	Keterangan	Nilai Variasi
Normal	Tidak terdapat kerusakan histologis	0
Kerusakan ringan	Kerusakan alveolus paru >0%-<30% dari seluruh lapangan pandang	1
Kerusakan sedang	Kerusakan alveolus paru >30% -<60% dari seluruh lapangan pandang	2
Kerusakan berat	Kerusakan alveolus paru >60% dari seluruh lapangan pandang	3

Derajat kerusakan paru ditentukan dengan adanya oedema alveolus, destruksi dinding alveoli, dan infiltrasi sel radang.

Oedema alveolus	Destruksi septum alveolar	Infiltrasi sel radang
<p>Dengan skoring :</p> <p>0 = tidak terjadi struktur perubahan histologis</p> <p>1 = oedema pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapangan pandang</p> <p>2 = oedema pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapangan pandang</p> <p>3 = oedema pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapangan pandang</p>	<p>Dengan skoring :</p> <p>0 = tidak terjadi perubahan struktur histologis</p> <p>1 = destruksi septum alveolar pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapangan pandang</p> <p>2 = destruksi septum alveolar pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapangan pandang</p> <p>3 = destruksi septum alveolar pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapangan pandang</p>	<p>Dengan skoring :</p> <p>0 = tidak terjadi perubahan struktur histologis</p> <p>1 = infiltrasi sel radang pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapangan pandang</p> <p>2 = infiltrasi sel radang pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapangan pandang</p> <p>3 = infiltrasi sel radang pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapangan pandang.</p>

HASIL

Data primer yang diperoleh berupa data gambaran mikroskopis paru dan kadar hemoglobin.

Tabel 2. Data hasil pengamatan mikroskopis paru tiap kelompok yang dinyatakan dalam jumlah tikus.

Kelompok	Normal	Kerusakan Ringan	Kerusakan Sedang	Kerusakan Berat	Σ
K	0	4	1	0	5
P1	0	0	0	5	5
P2	0	1	4	0	5

Keterangan :

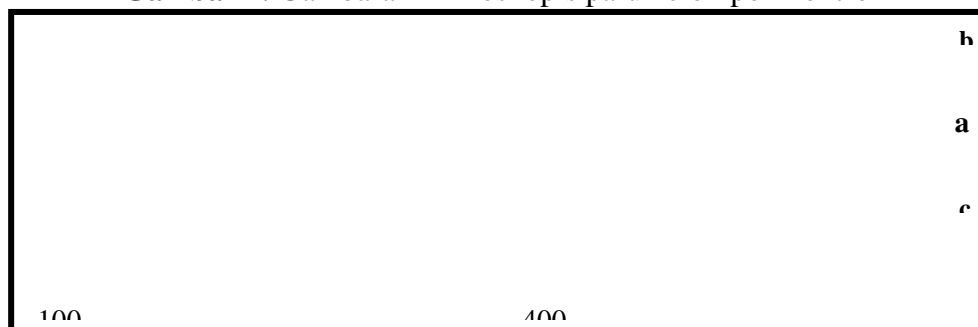
K : Kelompok kontrol, 5 ekor tikus wistar diberi makanan dan minuman standar selama 30 hari

P1 : Kelompok perlakuan 1, 5 ekor tikus wistar diberi paparan asap kendaraan bermotor di SPBU selama 30 hari. Lama paparan per hari adalah 8 jam.

P2 : Kelompok perlakuan 2, 5 ekor tikus wistar diberi susu kambing dengan dosis 473,2 mg/KgBB kemudian diberi paparan asap kendaraan bermotor di SPBU selama 30 hari. Lama paparan per hari adalah 8 jam.

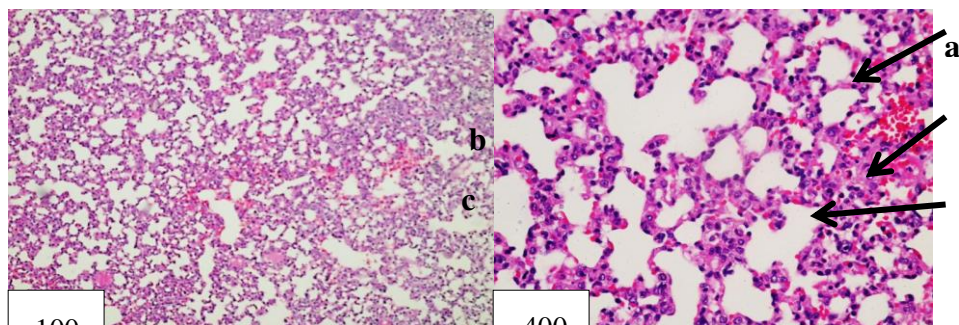
Gambaran mikroskopis menunjukkan perbedaan pada masing-masing kelompok yang dapat dilihat pada gambar 1-3. Pada kelompok kontrol terdapat infiltrasi sel radang dan kerusakan ringan. Pada kelompok perlakuan 1 terdapat kerusakan yang berat yaitu adanya gambaran oedema alveolus, destruksi septum interalveolar dan infiltrasi sel radang. Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 mengalami kerusakan sedang, hal ini disebabkan kelompok 2 telah diberi susu kambing dengan dosis 473,2 mg/KgBB sebelum diberi paparan asap kendaraan bermotor.

Gambar 1. Gambaran mikroskopis paru kelompok kontrol



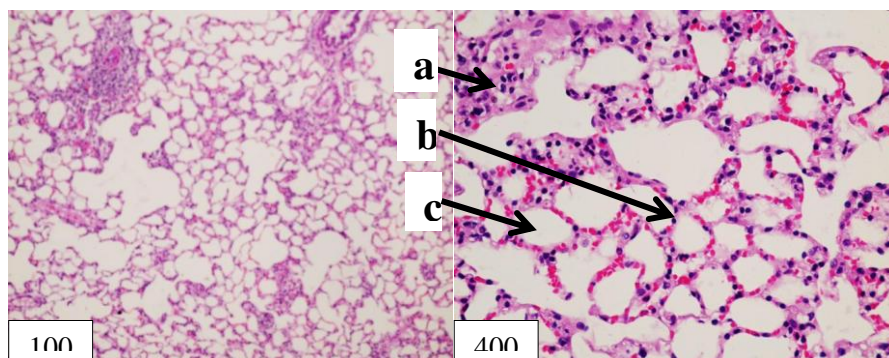
Keterangan : a = infiltrasi sel radang ; b = septum interalveolar ; c = alveolus

Gambar 2. Gambaran mikroskopis paru kelompok perlakuan 1



Keterangan : a = infiltrasi sel radang ; b= destruksi septum interalveoar; c = oedema alveolus.

Gambar 3. Gambaran mikroskopis paru perlakuan 2.



Keterangan : a = infiltrasi sel radang ; b = septum interalveolar ; c = alveolus

Data gambaran mikroskopis paru merupakan data ordinal yang akan diuji non parametric dengan uji *Kruskall-Wallis* dan diperoleh hasil $p < 0,05$ kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dan diperoleh hasil :

Tabel 3. Hasil analisis uji statistik *Mann Whitney*

Kelompok	P1	P2
K	0,004*	0,072
P1	-	0,004*

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Data kadar hemoglobin tikus wistar merupakan data dengan skala rasio yang diuji sebaran datanya terlebih dahulu menggunakan Uji *Saphiro-Wilk* dan diperoleh sebaran data yang normal. Deskripsi data yang digunakan adalah *mean* dan *standar deviasi*.

Tabel 4. Data deskriptif pengamatan kadar hemoglobin tikus wistar

Kelompok	Mean \pm SD	Normalitas (p)	Homogenitas (p)
Kontrol	12,9 \pm 0,949	0,073	0,000
Perlakuan 1	13,1 \pm 0,233	0,394	
Perlakuan 2	14,6 \pm 0,464	0,085	

Oleh karena sebaran data normal maka dilanjutkan dengan uji *One-Way Anova* dan diperoleh hasil $p = 0,002$ yang artinya paling tidak terdapat perbedaan kadar hemoglobin antara dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc* dan didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 5. Nilai p pada uji *Post Hoc* antar kelompok

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
Perlakuan 1	0,646	-	0,002*
Perlakuan 2	0,001*	0,002*	-

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini susu kambing mempengaruhi gambaran mikroskopis paru tikus wistar yang diberi paparan asap kendaraan bermotor. Perubahan gambaran mikroskopis paru antara kelompok yang diberi susu kambing sebelum pemaparan asap kendaraan bermotor

dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi paparan asap kendaraan bermotor dapat dilihat dari penurunan derajat oedema alveolus, destruksi septum interalveolar, dan infiltrasi sel radang.

Asap kendaraan bermotor mengandung berbagai senyawa yang bersifat sebagai polutan yang merupakan oksidan dan menimbulkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) melalui mekanisme pengrusakan makromolekul seperti protein, asam nukleat, dan lipid.¹⁴ Oksidan yang berasal dari asap kendaraan bermotor akan meningkatkan pembentukan ROS yang dapat menyebabkan penurunan pertahanan anti protease melalui penginaktifan *secretory leukoprotease inhibitor* (SLPI) dan α_1 -antitripsin (α_1 -AT) dan mengaktifkan sel epitel dan makrofag pada traktus respiratorius untuk melepaskan *neutrophil chemotactic factors*, termasuk interleukin 8 (IL-8) dan leukotriene B4 (LTB4).

Makrofag dan neutrofil akan melepaskan protease dengan melibatkan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMPs) dan *neutrophil elastase* sehingga meningkatkan proteolisis serta yang menghancurkan jaringan pengikat. Hal ini akan merusak struktur paru, salah satunya adalah destruksi septum interalveolar.¹⁵ Oedema paru terjadi karena peningkatan permeabilitas endotel kapiler sehingga protein plasma keluar bersama cairan tertimbun di jaringan yang selanjutnya menjadi oedema alveolar dimana cairan bergerak dalam alveoli. Apabila cairan yang bergerak ini berlebihan akan mendesak septum alveoli sehingga septum menipis kemudian atrofi.¹⁵

Susu kambing kaya akan komponen fungsional yang diperlukan tubuh diantaranya protein, vitamin C dan E, flavonoid, dan karotenoid dengan sifat antioksidannya.^{16, 17} Antioksidan akan melindungi tubuh dari kerusakan akibat aktivitas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merusak membran lipid, protein, dan DNA. Antioksidan dengan konsentrasi yang cukup mampu melindungi organisme dari radikal bebas.¹⁸ Susu kambing juga mengandung biopeptida aktif yang mampu bereperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi serta mengandung bahan pembentuk oksidan alami seperti sistein, seng (Zn), dan Besi (Fe) yang mampu sebagai kompetitif inhibitor pengikatan timbal di traktus gastrointestinal dan meningkatkan SOD.^{11, 19}

Sistein dan seng merupakan bahan pembentukan enzim-enzim antioksidan dapat menyeimbangkan jumlah oksidan dan antioksidan sehingga dapat mencegah kerusakan sel.

Karena aktivitas antioksidannya yang tinggi, susu kambing mampu mencegah kerusakan yang lebih berat terjadi pada tikus yang diberi paparan asap kendaraan bermotor.^{16, 17}

Hasil penelitian mengenai kadar hemoglobin menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki rerata kadar hemoglobin yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok K. Kadar Hb kelompok P2 menunjukkan rerata yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan P1.

Asap kendaraan bermotor mengandung senyawa-senyawa yang dapat mengganggu stabilitas hemoglobin dalam darah. Timbal yang berasal dari asap kendaraan bermotor apabila terhirup, 95% akan berikatan dengan eritrosit. Timbal yang berikatan dengan eritrosit ini akan menurunkan kestabilan membran sel sehingga meningkatkan laju hemolisis eritrosit. selain itu, timbal juga akan menghambat proses sintesis hemoglobin melalui penghambatan aktivitas enzim *hemisintetase* dan *ferrokelatase*.¹¹

Kemungkinan penyebab tingginya kadar hemoglobin yaitu metode pemeriksaan hemoglobin yang digunakan adalah metode sianmethemoglobin dengan alat spektrofotometer. Prinsip pemeriksaan dengan metode ini adalah eritrosit dilisiskan sehingga hemoglobin keluar kemudian diberi KCN dan terbentuk methemoglobin yang berpigmen stabil (sianmethemoglobin) sehingga dapat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Methemoglobin merupakan hasil suatu oksidasi hemoglobin. Pembentukan methemoglobin dipengaruhi berbagai zat salah satunya adalah nitrit.²⁰ Kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas juga dapat meningkatkan kadar methemoglobin.²¹

Karbon monoksida dari asap kendaraan bermotor apabila terhirup dan masuk dalam sirkulasi akan berikatan dengan Hb dan membentuk karboksihemoglobin (COHb) yang akan mengakibatkan terganggunya fungsi vital darah sebagai pengangkut oksigen karena ikatan CO terhadap Hb lebih kuat 140x dibanding Oksigen (O₂).⁶ Terbentuknya COHb akan menurunkan kemampuan Hb dalam mengangkut oksigen ke jaringan. Untuk mengkompensasi turunnya *oxygen delivery*, tubuh akan meningkatkan pembentukan hemoglobin.²²

Susu kambing mengandung bahan pembentuk antioksidan alami sehingga meningkatkan enzim SOD dapat mencegah lisisnya sel eritrosit dan kandungan besi (Fe) dalam susu kambing yang mampu sebagai kompetitif inhibitor pengikatan timbal di traktus gastrointestinal dan mengaktivasi enzim ALAD sehingga sintesis hemoglobin dapat terjadi.^{11,}

Iniilah yang menjadi landasan kadar hemoglobin kelompok P2 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok K dan kelompok P1.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil simpulan bahwa paparan asap kendaraan bermotor terhadap tikus wistar menyebabkan kelainan paru berupa oedema alveolus, destruksi septum interalveolaris dan infiltrasi sel radang. Kadar hemoglobin darah kelompok tikus wistar yang diberi paparan asap kendaraan bermotor tidak berbeda bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemberian susu kambing berpengaruh mencegah kerusakan paru tikus wistar yang diberi paparan asap kendaraan bermotor berupa oedema alveolus, destruksi septum interalveolaris dan infiltrasi sel radang. Kadar hemoglobin kelompok yang diberi susu kambing sebelum pemaparan asap kendaraan bermotor lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi paparan asap kendaraan bermotor. Adapun saran dari penelitian ini adalah perlu diadakan penelitian lebih lanjut hewan coba dengan spesiesnya yang lebih tinggi seperti kelinci atau kera. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian dosis susu kambing yang lebih bervariasi dan lama penelitian yang lebih panjang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Dr. dr. Kusmiyati Tjahyono DK, M.Kes, dr. Fanti Saktini, M.Si.Med dan dr. R.B. Bambang Witjahyo, M.Kes, seluruh staf bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan pihak-pihak lain yang telah membantu hingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Faiz O, Moffat D. Anatomy at a Glance. In Safitri A, (Ed): Erlangga 2003.
2. Tjahjono. Buku Ajar Patologi Saluran Napas. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro 2011.
3. Oemiati R. Kajian Epidemiologis Penyakit Paru Obstruktif kronik (PPOK). Media Litbangkes. 2013;23(2):82-88.

4. Abubakar MB, Abdullah WZ, Sulaiman SA, et al. The Effects of Exposure to Petrol Vapours on Growth, Haematological Parameters and Oxidative Markers in Sprague-Dawley Male Rats. *Malays J Med*. 2014;22(1):23-31.
5. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC 2009.
6. Sugiarti. Gas Pencemar Udara dan Pengaruhnya Bagi Kesehatan Manusia. *Jurnal Chemica*. 2009;Volume 10 No. 1:50-58.
7. Badan Lingkungan Hidup Yogyakarta. Laporan Status Lingkungan Hidup Daerah Istimewa Yogyakarta Bab II : Udara. In Kota BLH, (Ed). Daerah Istimewa Yogyakarta 2013.
8. Atmiyati. Potensi Susu Kambing sebagai Obat dan Sumber Protein Hewani untuk Meningkatkan gizi Petani. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*. 2001.
9. Sarah H. Goat Milk's Immune Enhancing Properties. *Happy Days Dairies Series*. 2013.
10. Young W. *Bioactive Component in Milk and Dairy Product*. A John Wiley & Sons Ltd. 2009.
11. Patrick L. Lead Toxicity Part II : The Role of Free Radical Damage and The Use of Antioxidants in the Patology and Treatment of Lead Toxicity. 2006;11.
12. Di´az-Castro J, Pe´rez-Sa´nchez LJ, Lo´pez-Fri´as MRr, et al. Influence of cow or goat milk consumption on antioxidant defence and lipid peroxidation during chronic iron repletion. *British Journal of Nutrition*. 2011;108:1–8.
13. Hansel TT, Barnes PJ. *An Atlas of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. London: Parthenon Publishing group 2004.
14. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*. 2008;4(2):89-96.
15. Kirana R. Pengaruh Pemberian Teh Hijau (*Cammelia sinensis*) terhadap Kerusakan Struktur Histologis Alveolus Paru Mencit yangDipapar Asap Rokok. 2009.
16. Dalle DI, Rossi R, Collombo R, et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*. 2006;52:601-623.
17. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normar physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2007;39.
18. Vasundara SH, Vijay KL, Jagan MR. Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Research International*. 2008;41.
19. Park Y. Bioactive component in goat milk. in *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. 2009:43-81.
20. Atyabi N, Yasini SP, Jalali SM, et al. Antioxidant Effect of Different Vitamins on Methemoglobin Production : An Invitro Study. *Veterinary Research Forum*. 2012;3(2):97-101.
21. Prasetyastuti. Korelasi Antara Kadar Vitamin C dengan Kadar Methemogobin Darah Lansia di Kecamatan Pakem Kabupaten Sleman. *Berita Kedokteran Masyarakat*. 2009;25(1):9-11.
22. Shah BK, AK Nepal, M Agrawal, et al. The Effects of Cigarette Smoking On Hemoglobin Levels Compared Between Smookers and Non Smokers. *Sunsari Technical College*. 2012;1(1).